

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201402011

陈宏伟, 钱玮, 刁刻, 等. 湖南道地白芷氨基酸含量与组成分析[J]. 广西植物, 2015, 35(4): 569–573

Chen HW, Qian W, Diao K, et al. Composition and content analysis of amino acid in authentic *Angelica dahurica* of Hunan[J]. *Guihaia*, 2015, 35(4): 569–573

## 湖南道地白芷氨基酸含量与组成分析

陈宏伟<sup>1,2</sup>, 钱 玮<sup>1</sup>, 刁 刻<sup>1</sup>, 饶力群<sup>2</sup>, 邱业先<sup>1,2\*</sup>

(1. 苏州科技学院 化学生物与材料工程学院, 江苏 苏州 215009; 2. 湖南农业大学 生物科学技术学院, 长沙 410128)

**摘 要:** 白芷是我国常用中药材的一种, 关于白芷镇痛的有效成分, 主要认为是异欧前胡素、欧前胡素等香豆素类具有解痉、镇痛等作用的挥发油类化学成分, 但白芷镇痛的成分及其机理尚不十分清楚, 是否有其他物质也具有一定的药理作用也不得而知, 比如说某些药效性氨基酸。该研究采用自动氨基酸分析仪测定了湖南道地茶陵白芷的蛋白质类氨基酸和游离氨基酸的含量, 并分析其氨基酸组成。结果表明: 总氨基酸检出除 Asn 以外的其他 16 种蛋白质氨基酸, 含量最高的 Arg 占总氨基酸的 31.21%, 接近 1/3; 必需氨基酸总量达 27.01%, 其中含量最高的是 Leu, 占总必需氨基酸的 24.14%; 药效氨基酸比例较高, 在酸水解产物总氨基酸和游离氨基酸中分别达到 73.89% 和 85.78%, 其中 Arg 的含量最高, 达  $1.383 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , 占比为 42.24%, 游离氨基酸中  $\gamma$ -氨基丁酸、鸟氨酸含量也较高。此外, 还含有少量的高半胱氨酸和鹅肌肽等游离非蛋白质氨基酸和短肽; 必需氨基酸的组成接近 WHO/FAO 的建议摄入量, 但 Met+Cys 的 RC 值最小, 为第一限制性氨基酸。这些药效性氨基酸和游离氨基酸可能是茶陵白芷具有良好药效的一个因素, 而且茶陵白芷的氨基酸组成和配比较合理、符合人体需要, 在强化含硫氨基酸的基础上具有开发成为新型药食同源保健性食品的潜力。研究结果可为进一步研究白芷的药理作用提供依据。

**关键词:** 白芷; 氨基酸组成; 游离氨基酸

**中图分类号:** Q946.8, R917      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3142(2015)04-0569-05

## Composition and content analysis of amino acid in authentic *Angelica dahurica* of Hunan

CHEN Hong-Wei<sup>1,2</sup>, QIAN Wei<sup>1</sup>, DIAO Ke<sup>1</sup>, RAO Li-Qun<sup>2</sup>, QIU Ye-Xian<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Chemistry Biology and Material Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 2. College of Bioscience and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** *Angelica dahurica* is a kind of Chinese herbal medicine. The effective components of *A. dahurica*, commonly known as coumarin, have drawn attention because of their wide spectrum of biological effects that might be mainly related to some chemical components with antispasmodic and analgesic activities like some volatile oils such as isoimperatorin, imperatorin and so on. But it is unclear what the components and mechanism of analgesia in *A. dahurica* are, and whether there are other substances just like some drug-effective amino acids have also some pharmacological effects can make nothing of it. In this study, the contents and composition of protein amino acids and free amino acids in Chaling *A. dahurica* of Hunan were determined by amino acid analyzer, and analysed of its amino acid composition. Among total amino acids, 16 kinds of amino acids except for Asn were detected, and the content of Arg was the highest and accounted for 31.21% close to 1/3 at the ratio of the total amino acids. The content of the

收稿日期: 2014-09-26      修回日期: 2014-12-09

基金项目: 江西省新世纪学术与技术带头人项目(20030304); 苏州市科技计划项目(SYN201410); 江苏高校优势学科建设工程项目。

作者简介: 陈宏伟(1978-), 男, 湖南茶陵人, 博士研究生, 讲师, 主要从事生物化学与分子生物学研究, (E-mail)hwchen2000@163.com。

\*通讯作者: 邱业先, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为生物化学与分子生物学, (E-mail)qyx542@mail.usts.edu.cn。

essential amino acid reached 27.01%, and the content of Leu is the highest, and accounted for the ratio of the total amino acids up to 24.14%. A higher proportion of essential amino acid are respectively 73.89% and 85.78% in total amino acids by the acid-catalysed hydrolysing and free amino acids, in which the content of Arg was the highest as 1.383 g · 100 g<sup>-1</sup>, and accounted for 42.24%. The content of gamma aminobutyric acid and ornithine in free amino acid was also to a high content. And in addition, a small amount of homocysteine and anserine free non protein amino acids and peptides were detected. The essential amino acid composition was close to the recommendations of the WHO/FAO uptake value. But Met+Cys had minimum RC value, and was the first limiting amino acid. The results showed that these drug-effective and free amino acids might be one cause that Chaling *A. dahurica* has good physiological function. Furthermore, the amino acid composition and ratio of Chaling *A. dahuricae* were relatively reasonable and according with the human body needs. Based on strengthening the sulfur-containing amino acid, Chaling *A. dahurica* has potential to develop as a new type of health food of edible and pharmaceutical. In addition, the study will also be a theory basis for further study on the pharmacological effects of *A. dahuricae*.

**Key words:** *Angelica dahurica*; amino acid composition; free amino acid

白芷为常用中药,具有驱风散寒、燥湿排脓、消肿止痛等功效,临床应用广泛。《中国药典》2010 版收录白芷为伞形科当归属植物白芷 (*Angelica dahurica*) 或杭白芷 (*A. dahurica* var. *formosana*) 的干燥根,在临床上广泛用于头痛、风湿痹痛、三叉神经痛等多种疼痛的治疗(中华人民共和国国家药典委员会, 2010)。关于白芷镇痛的有效成分研究主要是白芷中有关异欧前胡素、欧前胡素等香豆素类具有解痉、镇痛等作用的挥发油化学成分,但对其镇痛机理尚不十分清楚(王梦月等, 2002, 2005)。有关白芷中氨基酸的组成与含量尚未见有报道,本研究对湖南道地茶陵白芷的氨基酸成分和含量进行分析,为进一步研究与开发白芷提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料、试剂与仪器

所用白芷产自湖南省白芷主产地茶陵县,经我系植物学教研室王金虎副教授鉴定为杭白芷 (*Angelica dahurica* var. *formosana*)。氨基酸标准品购自德国曼默博尔公司(membraPure),其他试剂均为国产试剂分析纯。A300 型自动氨基酸分析仪购自德国曼默博尔公司。

### 1.2 方法

1.2.1 白芷的预处理 将干燥白芷块根用粉碎仪粉碎,过 60 目筛,置于干燥器中保存备用。

1.2.2 样品制备 白芷总氨基酸:称取适量白芷干粉,加 6 N HCl 密封于安瓿瓶中,于 110 °C 水解 22 h,用 LiOH 调 pH 为 2.2,加稀释液稀释至合适浓

度,0.22 μm 滤膜过滤,上样至 A300 自动氨基酸分析仪测定。白芷游离氨基酸:称取适量白芷干粉,按料液比 1 : 20 加入 5 mmol · L<sup>-1</sup> HCl (pH2.2) 浸提过夜,于 12 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min 去渣,取 400 μL 上清液,加 100 μL 10% 磺基水杨酸,置 4 °C 静置 60 min,于 14 500 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min,上清再次于 14 500 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min,取上清,用稀释液稀释至合适倍数,0.22 μm 滤膜过滤,上样至 A300 自动氨基酸分析仪测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 氨基酸含量测定

标准氨基酸色谱采用氨基酸标准品,其中包括磷酸丝氨酸(p-Ser),牛磺酸(Tau),磷乙醇胺(Pea),尿素,天冬氨酸(Asp),苏氨酸(Thr),丝氨酸(Ser),天冬酰胺(Asn),谷氨酸(Glu),肌氨酸(Sar),氨基肥酸(a-AAA),甘氨酸(Gly),丙氨酸(Ala),瓜氨酸(Cit),α-氨基正丁酸(a-ABA),缬氨酸(Val),半胱氨酸(Cys),胱硫醚(Cystha),蛋氨酸(Met),异亮氨酸(Ile),亮氨酸(Leu),正亮氨酸(Nle),酪氨酸(Tyr),苯丙氨酸(Phe),高半胱氨酸(H-Cys),γ-氨基丁酸(g-ABA),组氨酸(His),3-甲基组氨酸(3-Mehis)色氨酸(Trp),肌肽(Car),鹅肌肽(Ans),羧基赖氨酸(Hylys),鸟氨酸(Orn),赖氨酸(Lys),乙醇胺(EONH<sub>2</sub>),精氨酸(Arg),羧基脯氨酸(Hypro)和脯氨酸(Pro)等共计 42 种标准氨基酸。进样 20 μL 氨基酸标准品,采用双梯度(浓度梯度和温度梯度)分离模式分离,570nm/440nm 光源检测,

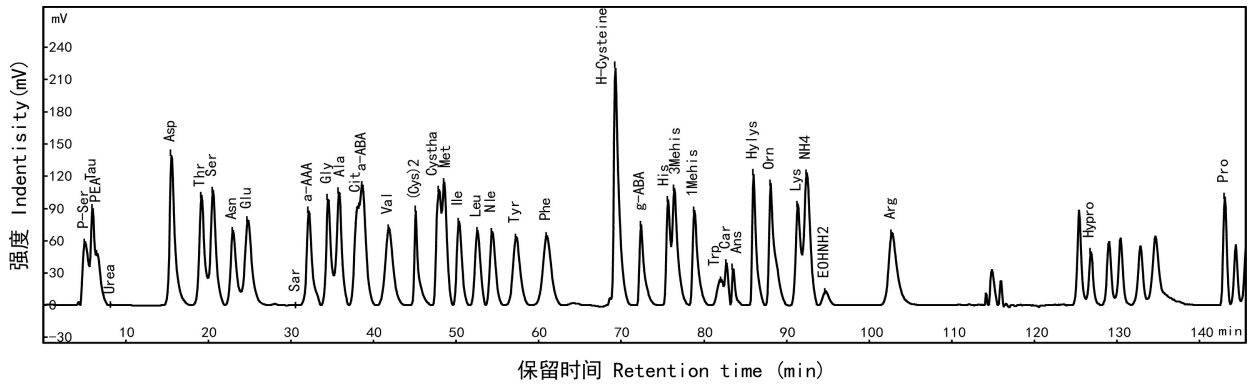


图 1 标准氨基酸色谱分离图

Fig. 1 Standard chromatography isolation of amino acids

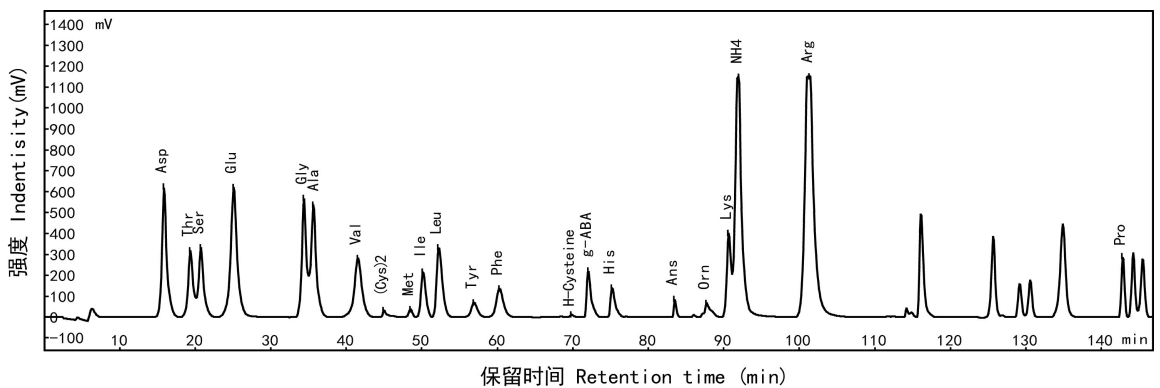


图 2 白芷总氨基酸色谱分离图

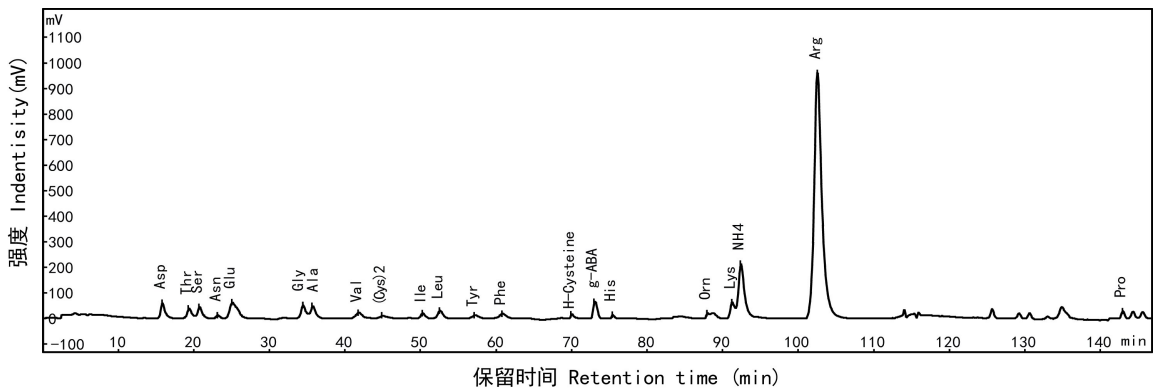
Fig. 2 Chromatography isolation of total amino acids in *Angelica dahurica*

图 3 白芷游离氨基酸色谱分离图

Fig. 3 Chromatography isolation of total amino acids in *Angelica dahurica*

其色谱图见图 1。由图 1 可知,42 种标准游离氨基酸在 110 min 内得到较好的分离。

## 2.2 样品氨基酸含量分析

根据图 1 标准氨基酸色谱图及其标准氨基酸含量分别判断和计算出白芷总氨基酸(图 2)和游离氨

基酸(图 3)的氨基酸种类及含量,如表 1 所示。

由表 1 氨基酸含量测定结果可知,总氨基酸检出除 Asn 外的其他 16 种蛋白质氨基酸,含量最高的 Arg 占总氨基酸的比值达 31.21%。必需氨基酸总量达到 27.01%,其中含量最高的是 Leu,占总必

表 1 白芷氨基酸含量 ( $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ )Table 1 Content of amino acids in *Angelica dahurica*

氨基酸 Amino acid	总氨基酸 Total amino acid	游离氨基酸 Free amino acid
Asp <sup>c</sup>	0.237	0.038
Thr <sup>a</sup>	0.155	0.033
Ser	0.130	0.031
Asn	—	0.014
Glu <sup>c</sup>	0.458	0.102
Gly <sup>c</sup>	0.183	0.030
Ala <sup>c</sup>	0.198	0.032
Val <sup>b</sup>	0.194	0.028
(Cys) <sup>2c</sup>	0.040	0.044
Met <sup>ac</sup>	0.017	—
Ile <sup>a</sup>	0.151	0.037
Leu <sup>ac</sup>	0.289	0.038
Tyr <sup>c</sup>	0.078	0.035
Phe <sup>ac</sup>	0.152	0.042
H-Cys	0.005	0.009
g-ABA	0.122	0.122
His	0.124	0.012
Ans	0.110	—
Orn	0.035	0.029
Lys <sup>ac</sup>	0.239	0.066
Arg <sup>c</sup>	1.383	1.672
Pro	0.131	0.033
TAA	4.431	2.447
EAA	1.197	0.244
EAA/TAA (%)	27.01	9.97
EAA/NEAA (%)	37.01	11.08
药效氨基酸 Drug-effective amino acid	3.274	2.099
药效氨基酸 Drug-effective amino acid/TAA	73.89	85.78

注: a. 必需氨基酸; c. 药效氨基酸; TAA. 总氨基酸; EAA. 必需氨基酸; NEAA. 非必需氨基酸。

Note: a: Essential amino acid; c: Drug-effective amino acid; TAA: Total amino acids; EAA: Essential amino acid; NEAA: Non-essential amino acid.

表 2 各种必需氨基酸与 WHO/FAO 推荐氨基酸模式谱比较  
Table 2 Comparison of essential amino acid composition in rice, milk, egg, soybean, beef and WHO/FAO recommended pattern ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  protein)

种类 Type	Thr	Val	Met+Cys	Ile	Leu	Phe+Tyr	Lys
WHO/FAO 建议标准模式	40	50	35	40	70	60	55
WHO/FAO recommended pattern							
大米 Rice	25	38	28	40	63	72	23
牛奶 Milk	44	64	33	47	95	102	78
鸡蛋 Egg	47	66	57	54	86	93	70
大豆 Soybean	28	32	12	43	57	32	49
牛肉 Beef	46	50	40	48	81	80	89
茶陵白芷 <i>Angelica dahurica</i> of Hunan	37	47	14	36	69	55	58

需氨基酸的 24.14%。

药效氨基酸比例较高,在酸水解产物总氨基酸

和游离氨基酸分别达 73.89% 和 85.78%,其中 Arg 的含量最高,达  $1.383 \text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ ,占比为 42.24%。

### 2.3 非蛋白质氨基酸分析

白芷中存在含量较高的非蛋白质氨基酸,游离氨基酸的测定结果也证实存在 g-ABA、Orn 和 H-Cys,并且与白芷蛋白水解产物的含量相当,说明这些氨基酸主要是以游离形式存在;而鹅肌肽在游离氨基酸中未检出,可能是白芷蛋白的水解产物,其中  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, g-ABA)和鸟氨酸(ornithine, Orn)的含量很高,尤其是白芷中  $\gamma$ -氨基丁酸达  $1.22 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,是稻芽、麦芽、红柚、炒稻芽、炒麦芽等中药材  $0.2 \sim 0.6 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  含量的 2~6 倍(陈体强等, 2005),占总氨基酸的 2.75% 和 2.48%,高半胱氨酸(Homocysteine, H-Cys)也有少量存在,此外还检出了鹅肌肽(anserine, Ans)。

### 2.4 白芷氨基酸的组成评价

与 WHO 标准模式氨基酸谱比较可知,白芷中除了 Met+Cys 外,其他必需氨基酸均接近于模式谱标准(FAO, 1973),这表明白芷的氨基酸配比比较合理,符合人体摄入的需要,是一种优质蛋白。与各类食品氨基酸模式相比,白芷贮藏蛋白氨基酸模式和大米相比各有高低,但明显优于大豆;在含硫氨基酸 Met+Cys 方面则不如牛奶、牛肉和鸡蛋,但与大豆相当。

由表 3 必需氨基酸的氨基酸比值及比值系数可知, Met + Cys 的 RC 值(朱圣陶等, 1988)最小,即为第一限制性氨基酸,这与多数双子叶植物缺乏含硫氨基酸相同。

表 3 白芷中各种必需氨基酸的 RAA 和 RC

Table 3 RAA and RC of essential amino acids in *Angelica dahurica*

	Thr	Val	Met+Cys	Ile	Leu	Phe+Tyr	Lys
RAA	0.93	0.93	0.39	0.91	0.99	0.92	1.05
RC	1.22	1.22	0.51	1.19	1.29	1.20	1.37

注: RAA. 氨基酸比值; RC. 氨基酸比值系数。

Note: RAA. Ratio of amino acid; RC: Ratio coefficient of amino acid.

## 3 讨论与结论

白芷在中药材中主要作为镇痛来使用,常常认为是其含有的香豆素类物质的作用;而本研究发现湖南道地的茶陵白芷中存在丰富的如 g-ABA、Orn、鸟氨酸和鹅肌肽等药效性非蛋白质氨基酸和小肽,

可能与其具有抑制神经传递和缓解疼痛作用存在一定的相关性,其确切的药效作用和机理值得深入探索;对于不同产地的白芷是否也具有类似的氨基酸组成还需要进一步的研究。

白芷氨基酸含量测定表明,药效氨基酸含量较高,在酸水解产物中和游离氨基酸中分别为 73.89% 和 85.78%,这可能与茶陵白芷具有良好的药理功能相关,其中含量最高的为精氨酸,占总氨基酸的 31.21%,接近 1/3;而庄岩等(1999)的研究表明精氨酸经消化道补充达到一定水平后能显著调节免疫细胞功能的作用。

本研究还发现,白芷除了含有丰富的蛋白质氨基酸外,还含有较丰富的非蛋白质氨基酸,如 g-ABA 含量为  $1.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,是稻芽、麦芽、红柚、炒稻芽、炒麦芽等中药材  $0.2 \sim 0.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  含量的 2~6 倍,分别占总氨基酸的 2.75% 和 2.48%,H-Cys 和 Ans 也有少量存在(陈体强等,2005)。这些游离氨基酸可能具有某些生理功能,如 g-ABA 是传递神经冲动、对人大脑中枢神经系统具有抑制作用、能减缓疲劳的神经递质(杨帆等,2011)。g-ABA 作为食品经口摄入,具有镇静、改善睡眠、降血压等功能(堀江典子等,2010);鸟氨酸可刺激脑垂体分泌成长激素,促进基础代谢,同时也可提高肠道免疫功能(胡学智等,2006),经肠道吸收后,鸟氨酸可能转化为具有解除痉挛、缓解疼痛作用的生物碱如莨菪碱(阿托品)、水苏碱等(匡海学等,2004)。Ans 具有抗氧化、降血压、抗肿瘤、抗疲劳的功能,是一种天然的神经调节剂(Marchis *et al.*,2000;何雄等,2007;唐道邦等,2008)。

茶陵白芷的氨基酸的含量及其组成也表明,茶陵白芷的氨基酸组成接近 WHO 的建议氨基酸摄入量,其氨基酸配比比较合理,且符合人体需要,在强化含硫氨基酸的基础上具有开发成为新型药食同源保健性食品的潜力。

## 参考文献:

Chen TQ(陈体强), Wu JZ(吴锦忠), Xu J(徐洁). 2005.

- Analysis of  $\gamma$ -Amino butyric acid in several corn medicinal materials(几种中药材中  $\gamma$ -氨基丁酸的测定)[J]. *Strait Pharm J* (海峡药学), **17**(5):75-77
- FAO. 1973. Energy and protein requirements[C]//Report of a Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee. FAO Nutrition Meeting Report Series No. 52. Roma
- He X(何雄), Xue CH(薛长湖), Yang WG(杨文鸽), *et al.*. 2007. Research and development of isolation and biological roles of carnosine (肌肽的提取分离与生物活性的研究进展)[J]. *Mar Sci*(海洋科学), **31**(5):85-89
- Horie N(堀江典子), Suga M(菅美奈子), Kim M(金武祚). 2010. Functionality of GABA( $\gamma$ -Amino Butyric Acid). (GABA( $\gamma$ -氨基丁酸)的功能性)[J]. *Chin Food Add*(中国食品添加剂), (6):169-173
- Hu XZ(胡学智). 2006. L-ornithine with general health care function(具有广泛保健功能的 L-鸟氨酸)[J]. *Food Ind* (食品工业), (1): 48
- Kuang HX(匡海学). 2004. *Pharmaceutical Chemistry*(中药化学)[M]. Beijing(北京): Chinese Medicine Press(中国中医药出版社)
- Marchis SD, Modena C. 2000. Carnosine-related dipeptides in neurons and glia [J]. *Biochemistry (Moscow)*, **65**: 824-834
- National Pharmacopoeia Committee(中华人民共和国国家药典委员会). 2010. *Pharmacopoeia of People's Republic of China*(中国药典)[M]. Beijing(北京): China Medical Science Press(中国医药科技出版社)
- Tang DB(唐道邦), Zhang L(张鹭), Xu YJ(徐玉娟), *et al.*. 2008. Research of carnosine content contrast in malesilk moth protein and its substrate(雄蚕蛾蛋白酶解前后的肌肽含量的对比研究)[J]. *Food Sci & Technol* (食品科技), **33**(11):30-33
- Wang MY(王梦月), Jia MR(贾敏如). 2002. Study progress on chemical constituents of angelica dahurica(白芷的化学成分研究进展)[J]. *J Chin Med Mat* (中药材), **25**(6):446
- Wang MY(王梦月), Jia MR(贾敏如), Ma YY(马逾英), *et al.*. 2005. Studies on analgesic components of *Radix Angelicae dahuricae*(白芷镇痛有效部位的化学成分研究)[J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), **40**(8):583-585
- Yang F(杨帆), Jin D(金迪), Cai DL(蔡东联), *et al.*. 2011. Study of anti-fatigue effect of  $\gamma$ -Aminobutyric acid tea on Mice ( $\gamma$ -氨基丁酸茶对小鼠抗疲劳作用的研究)[J]. *Amino Acids & Biot Resour* (氨基酸和生物资源), **33**(2): 60-63
- Zhuang Y(庄岩), Wang WZ(王文治). 1999. The effect of L-arginine on the growth of tumor and its mechanism(精氨酸对肿瘤生长的影响及其作用机制)[J]. *Chin J Gen Surg*(中华普通外科杂志), **14**(5):377-379
- Zhu ST(朱圣陶), Wu K(吴坤). 1988. protein quality amino acid enrichment amino acid score ratio coefficient (蛋白质营养价值评价:氨基酸比值系数法)[J]. *Acta Nutr Sin*(营养学报), (10): 187-190